

# LA BIODIVERSITÀ DELL'ARIA: POLLINE E DNA

*Antonella Cristofori, Kleopatra Leontidou, Fabiana Cristofolini, Cristiano Vernesi - Fondazione Edmund Mach*

Attraverso l'analisi del polline disperso nell'aria (aerodisperso) si possono avere informazioni circa la flora locale e l'eventuale diffusione di specie aliene. Il monitoraggio biologico dell'aria, condotto ormai dal 1989 presso il Centro di Monitoraggio Aerobiologico di San Michele all'Adige (responsabile Elena Gottardini), permette di stimare la fioritura dei principali pollini anemofili – ovvero il cui polline si disperde grazie al vento – così come la loro risposta riproduttiva ai cambiamenti ambientali e climatici su scala spaziale e temporale. La caratterizzazione dello spettro pollinico avviene solitamente al microscopio ottico dove le differenze morfo-metriche consentono di identificare i diversi tipi pollinici. Questa procedura presenta al-

cune importanti criticità: non sempre si riesce ad arrivare ad un'identificazione al livello della specie, i tempi di analisi sono relativamente lunghi, esiste un certo margine di soggettività nell'interpretazione, ed è necessario personale altamente specializzato.

Recentemente si sono affacciate nuove metodiche per l'identificazione delle singole specie (identificazione tassonomica) a partire da campioni ambientali, quali appunto l'aria raccolta dai campionatori di polline, una colonna d'acqua prelevata da un ruscello oppure una carota di sedimento lacustre. Una di queste procedure si basa sulle caratteristiche che alcune porzioni di DNA posseggono in virtù del processo di evoluzione naturale. Organismi evolutivamente vicini seppur

ormai molto differenziati (e.g. la classe dei Mammiferi) hanno regioni di DNA costituite da tratti conservati – molto simili anche in organismi molto diversi (ad esempio cane ed elefante) – contenenti tratti variabili anche fra specie molto vicine (e.g. scimpanzè e gorilla).

Una volta estratto il DNA da un campione ambientale, quindi, si seleziona una o più di queste regioni informative e si vanno a leggere quei tratti variabili che, come il codice a barre dei prodotti di un supermercato, identificano la singola specie. La tecnica prende il nome di DNA metabarcoding dall'inglese barcode, codice a barre, preceduto dal prefisso meta, ad indicare la presenza di organismi diversi nel campione analizzato. Nel nostro caso, è in corso un'attività di



ricerca, (\*progetto BioAir), finalizzata a rendere il DNA metabarcoding efficace per l'identificazione tassonomica di polline aerodisperso in campioni ambientali. In particolare, ci stiamo prefiggendo di stimare la biodiversità dell'aria di differenti habitat – classificati in base allo schema europeo delle aree protette Natura 2000 e allo schema più generale Corine Land Cover – dentro e nelle immediate vicinanze del Parco Naturale di Paneveggio Pale di S. Martino, area di estremo interesse naturalistico, ambientale e culturale, vista la sua centralità nelle Dolomiti, patrimonio UNESCO. L'estrazione di DNA di buona qualità da un campione ambientale richiede molta perizia ed una particolare attenzione. Il cosiddetto DNA ambientale (eDNA) è

spesso frammentato per l'azione degli agenti atmosferici e della degradazione da parte dei microorganismi ed è mediamente presente a basse concentrazioni. Diventa, perciò, fondamentale mettere a punto protocolli molto accurati che permettano da un lato di massimizzare la resa quantitativa e dall'altro di evitare la contaminazione da agenti esterni.

Dopo una serie di esperimenti siamo giunti all'ottimizzazione di una procedura di estrazione, amplificazione e sequenziamento dell'eDNA che ci ha permesso di testare l'identificazione tassonomica di alcuni campioni raccolti. Come termine di confronto per la verifica dell'efficacia del metodo, abbiamo effettuato sugli stessi campioni una meticolosa analisi morfometrica al microscopio.

I risultati mostrano con chiarezza il maggiore potere di risoluzione del DNA metabarcoding rispetto all'analisi microscopica. Esistono, come peraltro già evidenziato dalla letteratura scientifica, casi in cui il DNA metabarcoding non riesce ad evidenziare la presenza di organismi identificati invece dall'analisi al microscopio.

Una spiegazione plausibile nel nostro caso è che non abbiamo ancora sfruttato tutte le potenzialità delle nuove tecniche di High Throughput Sequencing, HTS. Si tratta di metodiche che rispetto al

sequenziamento classico (Sanger) permettono di ottenere almeno tre-quattro ordini di grandezza in più nel numero di sequenze di DNA a parità di DNA di partenza. Anche in virtù di questo, confidiamo che presto il DNA metabarcoding possa diventare una valida alternativa per procedere all'identificazione delle specie di appartenenza di una miscela complessa di pollini in modo più rapido (l'intera procedura può esser conclusa in una settimana su circa 100 campioni), economico (il costo dell'HTS è in continua discesa) e, soprattutto, preciso ed affidabile rispetto alla classica procedura. Quest'ultima, è bene sottolinearlo, permette anche una stima quantitativa dei differenti tipi pollinici, mentre è ancora da sviluppare questo aspetto per le tecniche basate sul DNA.

**(\*) Il progetto BioAir, finanziato da una borsa di studio della scuola internazionale di dottorato FEM, è svolto in collaborazione con l'Università di Milano Bicocca e l'Università Aristotle di Thessaloniki, Grecia.**

**Si ringraziano Maria Cristina Viola per il prezioso lavoro di identificazione microscopica del polline, e il Parco Paneveggio-Pale di San Martino nella persona di Maurizio Salvadori, per il valido supporto del lavoro in campo.**